

# IMMULITE®

## ECP

For use on the IMMULITE®  
and IMMULITE® 1000 systems

**DPC®**

# IMMULITE®/IMMULITE 1000® ECP

---

## English

---

**Intended Use:** For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE and IMMULITE 1000 Analyzers — for the quantitative measurement of eosinophil cationic protein (ECP) in serum.

Catalog Number: **LKEOZ** (50 tests)

Test Code: **ECP** Color: **Aqua**

CDC Analyte Identifier Code: 1616

CDC Test System Identifier Code: 10418

CLIA Complexity Category: Moderate

### Summary and Explanation

Eosinophils, originating from bone-marrow stem cells, appear in large numbers at inflammation sites and in response to certain parasitic infections. These leukocytes, when mature, reside mostly in tissues, but about 1% of the eosinophil population circulates in the blood. Activated eosinophils degranulate to release four highly basic proteins into the surrounding tissue. The granular proteins, which can kill parasites and some mammalian cells, might cause the tissue damage associated with asthma and other inflammatory diseases. Eosinophil activation accompanies a wide range of inflammatory conditions, including bronchial asthma, atopic dermatitis, rhinitis, allergic eye inflammation, allergic middle ear effusion, parasitic and bacterial infections, autoimmune diseases, and chronic fatigue syndrome.<sup>11</sup>

Among the four basic granule proteins, eosinophil cationic protein (ECP) has proven a useful monitor for many active inflammatory diseases.<sup>11</sup> ECP concentrations in plasma and certain other body fluids increase during inflammatory reactions marked by activated eosinophils. Produced by eosinophils exclusively, ECP is toxic to neurons, some epithelial cell lines, and isolated myocardial cells. The positively charged protein binds to heparin and inhibits blood coagulation.

Several studies report high individual and group correlations between ECP levels and clinical asthma symptoms, such as increases in peak expiratory flow (PEF),

prn ("as needed") inhaled  $\beta_2$ -agonist, airway responsiveness, and spirometry.<sup>1,10</sup> Atopic serum samples have higher ECP levels than nonatopic control samples, even when the circulating eosinophil count remains within the normal range.<sup>9</sup> In seasonal asthmatic patients, ECP measurements reflect changes in disease activity throughout the year.<sup>1,9</sup> Roquet, et al. reported significant correlations between ECP levels and bronchial hyperreactivity in mildly asthmatic patients.<sup>6</sup> Tomassini, et al. showed that serum ECP concentrations exceed normal, control levels in both IgE-mediated and non-IgE-mediated atopic conditions. Serum ECP measurements avoid inconsistencies inherent in subjective asthma assessments.

Serum ECP concentrations can indicate the severity of certain skin disorders.<sup>2,3</sup> ECP's neuronal toxicity might contribute to itching disorders; patients with certain skin disorders, such as papular erythematous eruptions and prurigo nodularis, displayed increased serum ECP levels, which normalized when the conditions healed.<sup>8,3</sup> Several groups found that serum ECP concentrations reflect atopic dermatitis (AD) activity.<sup>2,3</sup> The commonly used clinical scoring system for atopic dermatitis records lichenification, loss of sleep, erythema, papules, pruritus, and excoriations. Czech, et al. showed that ECP correlates with each of these symptoms and most highly correlates with the total clinical score. Although altered immunological parameters accompany atopic dermatitis, measured serum IgE concentrations did not correlate with some of the clinical symptoms.<sup>2</sup> The objective nature of serum ECP measurements presents an advantage over the subjective clinical measures, which are prone to inconsistencies arising from the broad range in individual investigator and patient assessments.

### Principle of the Procedure

IMMULITE/IMMULITE 1000 ECP is a solid-phase, two-site chemiluminescent immunometric assay.

**Incubation Cycles:** 1 × 30 minutes.

## Specimen Collection

The patient need not be fasting. Collect blood by venipuncture<sup>13</sup> into **Becton Dickinson SST vacutainer tubes**, noting the time of collection. Fill collection tubes completely, gently invert, and let the blood clot for 60–120 minutes at room temperature (15–28°C). Centrifuge at 1,000–1,300×g for 10 minutes at room temperature, and separate the serum from the cells. Please note that blood sample processing parameters, including time and temperature of blood clotting, centrifugation, and sample storage, may impact measured ECP concentration.<sup>7</sup> Variations in blood processing parameters between sampling may cause inconsistent ECP measurements.

### Plasma or hemolyzed samples should not be used.

The use of an ultracentrifuge is recommended to clear lipemic samples.

Centrifuging serum samples before a complete clot forms may result in the presence of fibrin. To prevent erroneous results due to the presence of fibrin, ensure that complete clot formation has taken place prior to centrifugation of samples. Some samples, particularly those from patients receiving anticoagulant therapy, may require increased clotting time.

Blood collection tubes from different manufacturers may yield differing values, depending on materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants. IMMULITE/IMMULITE 1000 ECP has not been tested with all possible variations of tube types.

**Volume Required:** 5 µL serum. (Sample cup must contain at least 100 µL more than the total volume required.)

**Storage:** 7 days at 2–8°C or 3 months at –20°C.<sup>12</sup>

Store the serum samples in polystyrene or polypropylene rather than glass tubes, to avoid a decrease in ECP values. Do *not* attempt to thaw frozen specimens by heating them in a waterbath. Avoid repeated freeze/thaw cycles.

## Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use only.

**Reagents:** Store at 2–8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

Follow universal precautions, and handle all components as if capable of transmitting infectious agents. Source materials derived from human blood were tested and found nonreactive for syphilis; for antibodies to HIV 1 and 2; for hepatitis B surface antigen; and for antibodies to hepatitis C.

Sodium azide, at concentrations less than 0.1 g/dL, has been added as a preservative. On disposal, flush with large volumes of water to prevent the buildup of potentially explosive metal azides in lead and copper plumbing.

**Chemiluminescent Substrate:** Avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

**Water:** Use distilled or deionized water.

## Materials Supplied

Components are a matched set. The barcode labels are needed for the assay.

### ECP Test Units (LEO1)

Each barcode-labeled unit contains one bead coated with monoclonal murine anti-ECP antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.

**LKEOZ:** 50 units.

Allow the Test Unit bags to come to room temperature before opening. Open by cutting along the top edge, leaving the ziplock ridge intact. Reseal the bags to protect from moisture.

### ECP Reagent Wedge (LEO2)

With barcode. 7.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal rabbit anti-ECP antibody in buffer, with preservative. Store capped and refrigerated: stable at 2–8°C until expiration date. Recommended usage is within 30 days after opening when stored as indicated.

**LKEOZ:** 1 wedge.

### ECP Adjustors (LEOL, LEOH)

Two vials containing lyophilized (Low and High) ECP in an ECP-free nonhuman serum/buffer matrix, with preservative. Reconstitute each vial with **2.0 mL** distilled or deionized water. Mix by gentle swirling or inversion until the lyophilized material is

fully dissolved. Aliquot and freeze immediately after reconstitution. Stable at  $-20^{\circ}\text{C}$  for 6 months after reconstitution.

**LKEOZ:** 1 set.

#### **ECP Controls (LEOC1, LEOC2)**

Two vials containing lyophilized ECP in an ECP-free nonhuman serum/buffer matrix, with preservative. Reconstitute each vial with **2.0 mL** distilled or deionized water. Mix by gentle, intermittent swirling. Aliquot and freeze immediately after reconstitution. Stable at  $-20^{\circ}\text{C}$  for 6 months after reconstitution.

**LKEOZ:** 1 set.

Refer to the control insert for concentration levels.

#### **Kit Components Supplied Separately**

##### **ECP Sample Diluent (LEOZ)**

For the manual dilution of patient samples. One vial 25 mL of processed, ECP-free nonhuman serum/buffer, with preservative. Stable at  $2-8^{\circ}\text{C}$  for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at  $-20^{\circ}\text{C}$ .

**LSUBX:** Chemiluminescent Substrate

**LPWS2:** Probe Wash Module

**LKPM :** Probe Cleaning Kit

**LCHx-y:** Sample Cup Holders (barcoded)

**LSCP:** Sample Cups (disposable)

**LSCC:** Sample Cup Caps (optional)

Also Required

Sample transfer pipets, distilled or deionized water.

#### **Assay Procedure**

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual.

See the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Visually inspect each Test Unit for the presence of a bead before loading it onto the system.

**Recommended Adjustment Interval:**  
2 weeks.

**Quality Control Samples:** Use the control(s) supplied with the kit.

#### **Expected Values**

A study performed on 56 apparently healthy laboratory volunteers (30 males and 26 females) yielded a mean of 11 ng/mL, a median of 10 ng/mL, and a lower 95% reference range of:

ND to 24 ng/mL

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

#### **Limitations**

Variations in blood processing parameters could cause inconsistent ECP measurements.<sup>7</sup>

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

#### **Performance Data**

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in ng/mL. (Unless otherwise specified, all results were generated on serum samples collected in Becton Dickinson SST vacutainer tubes.)

**Calibration Range:** up to 200 ng/mL.

**Analytical Sensitivity:** 0.2 ng/mL.

**High-dose Hook Effect:**

None up to 8,000 ng/mL

**Intraassay Precision (Within-Run):**

Statistics were calculated for samples

from the results of 20 replicates in a single run. (See "Intraassay Precision" table.)

**Interassay Precision (Run-to-Run):**

Statistics were calculated for samples assayed in 20 different runs. (See "Interassay Precision" table.)

**Linearity:** Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

**Recovery:** Samples spiked 1 to 19 with three ECP solutions (100, 600 and 1,680 ng/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

**Bilirubin:** Presence of bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

**Hemolysis:** May cause a slight elevation of values. (See "Hemolysis" table.)

**Lipemia:** Presence of triglycerides in concentrations up to 3,000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

**Method Comparison:** The assay was compared to a fluoroimmunoassay from Pharmacia CAP System on 167 patient serum samples. (Concentration range: approximately 2 to 145 ng/mL. See graph.) By linear regression:

$$(IML) = 1.16 (\text{Pharmacia CAP}) - 1.46 \text{ ng/mL}$$
$$r = 0.988$$

Means:  
19.8 ng/mL (IMMULITE)  
18.3 ng/mL (Pharmacia CAP)

**References**

1) D'Amato G, Liccardi G, et al. Measurement of serum levels of eosinophil cationic protein to monitor patients with seasonal respiratory allergy induced by *Parietaria* pollen (treated and untreated with specific immunotherapy). *Allergy* 1996;51:245-50. 2) Czech W, Krutmann J, et al. Serum eosinophil cationic protein (ECP) is a sensitive measure for disease activity in atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1992;126:351-5. 3) Juhlin L, Venge P. Eosinophilic Cationic Protein (ECP) in skin disorders. *Acta Derm Venereol* 1991;71:495-501. 4) Peterson CG, Enander I, et al. Radioimmunoassay of human eosinophil cationic protein (ECP) by an improved method. Establishment of normal levels in serum and turnover *in vivo*. *Clin Exper Allerg* 1991;21:561-7. 5) Reimert CM, Poulsen LK, et al. Measurement of eosinophil cationic protein (ECP) and eosinophil protein X/eosinophil-derived neurotoxin (EPX/EDN). Time and temperature dependent spontaneous release *in*

*vitro* demands standardized sample processing. *J Immun Meth* 1993;166:183-90. 6) Roquet A, Hallden G, et al. Eosinophil activity markers in peripheral blood have high predictive value for bronchial hyperreactivity in patients with suspected mild asthma. *Allergy* 1996;51:482-8. 7) Rubira N, Rodrigo MJ, et al. Blood sample processing affect on cationic protein concentraion. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997;78:394-8. 8) Sunohara N, Furukawa S, et al. Neurotoxicity of human eosinophils towards periperal nerves. *J Neurolog Sci* 1989;92:1-7. 9) Tomassini M, Magrini L, et al. Serum levels of eosinophil cationic protein in allergic diseases and natural allergen exposure. *J Allerg Clin Immun* 1996;97:1350-5. 10) Vatrella A, Ponticello A, et al. Serum eosinophil cationic protein (ECP) as a marker of disease activity and treatment efficacy in seasonal asthma. *Allergy* 1996;51:547-55. 11) Wardlaw AJ. Eosinophils in the 1990s: new perspectives on their role in health and disease. *Postgrad Med J* 1994;70:536-552. 12) Data on file. 13) National Committee for Clinical Laboratory Standards, Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture, 3rd ed, NCCLS Document H3-A3, 1991.

**Technical Assistance**

Available outside the United States only. For technical assistance, contact your National Distributor.

The Quality System of Diagnostic Products Corporation is registered to ISO 13485:2003.

---

**Tables and Graphs**

---

**Intraassay Precision (ng/mL)**

	Mean <sup>1</sup>	SD <sup>2</sup>	CV <sup>3</sup>
1	5.6	0.54	9.6%
2	18	1.8	10%
3	34	1.5	4.4%
4	57	2.4	4.2%
5	115	7.3	6.3%

**Interassay Precision (ng/mL)**

	Mean <sup>1</sup>	SD <sup>2</sup>	CV <sup>3</sup>
1	6.2	0.56	9.0%
2	18	1.6	8.9%
3	35	2.5	7.1%
4	44	6.7	15%
5	128	10.4	8.1%

**Recovery (ng/mL)**

	Solution <sup>1</sup>	Observed <sup>2</sup>	Expected <sup>3</sup>	%O/E <sup>4</sup>
1	—	9.8	—	—
	A	13	14	93%
	B	33	39	85%
	C	84	93	90%
2	—	11	—	—
	A	15	15	100%
	B	35	40	88%
	C	82	94	87%
3	—	22	—	—
	A	28	26	108%
	B	48	51	94%
	C	114	105	109%

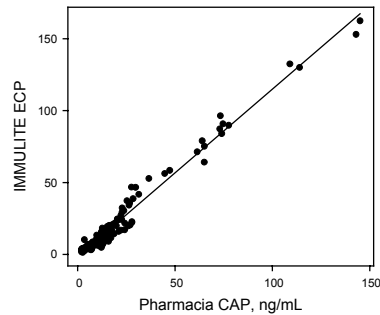
**Linearity (ng/mL)**

	Dilution <sup>1</sup>	Observed <sup>2</sup>	Expected <sup>3</sup>	%O/E <sup>4</sup>
1	8 in 8 <sup>5</sup>	19.1	—	—
	4 in 8	9.6	9.6	100%
	2 in 8	4.7	4.8	98%
	1 in 8	2.0	2.4	83%
2	32 in 32	45	—	—
	16 in 32	21	23	91%
	8 in 32	11.0	11.3	97%
	4 in 32	5.0	5.6	89%
	2 in 32	2.5	2.8	89%
	1 in 32	1.2	1.4	86%
3	32 in 32	86	—	—
	16 in 32	42	43	98%
	8 in 32	20	22	91%
	4 in 32	9.0	10.8	83%
	2 in 32	4.8	5.4	89%
	1 in 32	2.2	2.7	81%
4	32 in 32	93	—	—
	16 in 32	48	47	102%
	8 in 32	23	23	100%
	4 in 32	12.0	11.6	103%
	2 in 32	5.7	5.8	98%
	1 in 32	2.7	2.9	93%

**Hemoglobin**

	Unspiked <sup>1</sup>	168 mg/dL	252 mg/dL	504 mg/dL
1	9.3	8.8	9.0	10.4
2	12	14	13	15
3	16	18	17	23
4	26	26	29	31
5	68	70	77	89
6	69	70	66	66
7	134	140	150	156

## Method Comparison



(IML) = 1.16 (Pharmacia CAP) – 1.46 ng/mL  
 $r = 0.988$

**Deutsch. Intraassay Precision:** <sup>1</sup>Mittelwert, <sup>2</sup>S (Standardabweichung), <sup>3</sup>CV (Variationskoeffizient). **Interassay Precision:** <sup>1</sup>Mittelwert, <sup>2</sup>S (Standardabweichung), <sup>3</sup>CV (Variationskoeffizient). **Recovery:** <sup>1</sup>Probe, <sup>2</sup>Beobachtet (B), <sup>3</sup>Erwartet (E), <sup>4</sup>% B/E. **Linearity:** <sup>1</sup>Verdünnung, <sup>2</sup>Beobachten (B), <sup>3</sup>Erwartet (E), <sup>4</sup>% B/E, <sup>5</sup>8 in 8. **Hemolysis:** <sup>1</sup>Ohne Zugabe von.

**Español. Intraassay Precision:** <sup>1</sup>Media, <sup>2</sup>DS, <sup>3</sup>CV. **Interassay Precision:** <sup>1</sup>Media, <sup>2</sup>DS, <sup>3</sup>CV. **Recovery:** <sup>1</sup>Solución, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E. **Linearity:** <sup>1</sup>Dilución, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E, <sup>5</sup>8 en 8. **Hemolysis:** <sup>1</sup>No sobrecargadas

**Français. Intraassay Precision:** <sup>1</sup>Moyenne, <sup>2</sup>SD, <sup>3</sup>CV. **Interassay Precision:** <sup>1</sup>Moyenne, <sup>2</sup>SD, <sup>3</sup>CV. **Recovery:** <sup>1</sup>Solution, <sup>2</sup>Observé (O), <sup>3</sup>Attendu (A), <sup>4</sup>%O/A. **Linearity:** <sup>1</sup>Dilution, <sup>2</sup>Observé (O), <sup>3</sup>Attendu (A), <sup>4</sup>%O/A, <sup>5</sup>8 dans 8. **Hemolysis:** <sup>1</sup>Pur

**Italiano. Intraassay Precision:** <sup>1</sup>Media, <sup>2</sup>SD (Deviazione Standard), <sup>3</sup>CV (Coefficiente di Variazione). **Interassay Precision:** <sup>1</sup>Media, <sup>2</sup>SD (Deviazione Standard), <sup>3</sup>CV (Coefficiente di Variazione). **Recovery:** <sup>1</sup>Soluzione, <sup>2</sup>Osservato (O), <sup>3</sup>Atteso (A), <sup>4</sup>%O/A. **Linearity:** <sup>1</sup>Diluzione, <sup>2</sup>Osservato (O), <sup>3</sup>Atteso (A), <sup>4</sup>%O/A, <sup>5</sup>8 in 8. **Hemolysis:** <sup>1</sup>Semplice, senza aggiunte

**Português. Intraassay Precision:** <sup>1</sup>Média, <sup>2</sup>Desvio padrão, <sup>3</sup>Coefficiente de variação. **Interassay Precision:** <sup>1</sup>Média, <sup>2</sup>Desvio padrão, <sup>3</sup>Coefficiente de variação. **Recovery:** <sup>1</sup>Solução, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E. **Linearity:** <sup>1</sup>Diluição, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E, <sup>5</sup>8 em 8. **Hemolysis:** <sup>1</sup>Não adicionada

## Deutsch

### ECP – IMMULITE

**Anwendung:** Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE und IMMULITE 1000 Systeme – zur quantitativen Messung von Eosinophilen kationischen Protein (ECP) im Serum

Artikelnummern:

**LKEOZ** (50 Tests)

Testcode: **ECP** Farbe: **aqua-blau**

### Klinische Relevanz

Eosinophile Zellen sind Abkömmlinge der Stammzellen des Knochenmarks, die in großer Zahl in Entzündungsherden und als Antwort auf verschiedene parasitäre Infektionen gefunden werden. Nach ihrer Reifung verweilen die eosinophilen Leukozyten größtenteils im Gewebe, sodass nur etwa 1% der Gesamtpopulation im Blut zirkulierend gefunden werden. Degranulierende, aktivierte Eosinophile setzen vier stark basischen Proteinen in das umgebende Gewebe frei. Diese granulären Proteine sind in der Lage Parasiten abzutöten sowie einige Säugerzellen zu schädigen, beispielsweise erkennbar an den mit Asthma oder anderen entzündlichen Erkrankungen assoziierten Gewebläsionen. Die Aktivierung der Eosinophilen findet sich einer Vielzahl entzündlicher Vorgänge, wie Asthma bronchiale, atopischer Dermatitis, Rhinitis, allergischen Entzündungen des Auges, allergisch bedingtem Mittelohr-Erguß, parasitären und bakteriellen Entzündungen, Autoimmunerkrankungen sowie dem Chronic Fatigue Syndrome gefunden.<sup>11</sup>

Der Nachweis zirkulierender ECP-Spiegel findet seit langem Einsatz als objektiver Parameter zur Beurteilung der Krankheitsaktivität.<sup>11</sup> Als Marker für die Aktivierung der Eosinophilen steigt die ECP-Konzentration im Plasma und anderen Körperflüssigkeiten während entzündlicher Reaktionen an. ECP ist toxisch für Neurone, einige Epithelzelllinien und isolierte Myocardzellen. Das positiv geladene

Protein bindet an Heparin und inhibiert die Koagulation des Blutes.

Im Rahmen umfangreicher Studien wurde die Korrelation der ECP-Spiegel mit der klinischen Symptomatik bestimmt, beispielsweise gemessen am Peak expiratory Flow (PEF), dem Bedarf an inhalierten  $\beta_2$ -Agonisten, Atemwegsreaktion und mittels spirometrischer Messung.<sup>1,10</sup> Bei Asthmatikern konnte gezeigt werden, daß unter der Belastung des Pollenfluges signifikant höhere ECP-Spiegel vorliegen als im Winter, wenn die Patienten weniger stark ihren Allergenen ausgesetzt sind.<sup>9</sup> Die Behandlung mit entzündungshemmenden Medikamenten führt sowohl zu einer Besserung der klinischen Symptomatik der Patienten, wie auch zu einer Reduktion der saisonal erhöhten Spiegel zirkulierender ECP's.<sup>1,9</sup> Daher kann ECP bei Asthmatikern als sensitiver Marker zur Beurteilung der Krankheitsaktivität, wie auch zur Therapiekontrolle eingesetzt werden.<sup>6</sup> Tomassini et al. zeigten, dass die Serumkonzentration des ECP sowohl bei IgE-vermittelten, als auch bei nicht IgE vermittelten atopischen Zuständen höher lagen, als bei gesunden Kontrollgruppen. Die Messung der Serumkonzentration des ECP vermeidet Unstimmigkeiten bei der subjektiven Einschätzung des Asthmaschweregrades.

Der Nachweis der ECP-Serumkonzentration kann auch bei einigen Erkrankungen der Haut zur Bestimmung des Schweregrades der Erkrankung eingesetzt werden.<sup>2,3</sup> Bedingt durch seine neurotoxische Wirkung scheint ECP an der Ausbildung des Juckreizes beteiligt zu sein und findet sich bei Erkrankungen wie Prurigo nodularis, papulösen erythematösen Eruptionen.<sup>3,8</sup> Nach Abklingen der Beschwerden sinken auch die ECP-Spiegel wieder auf Normalniveau.<sup>2,3</sup> Auch für die atopische Dermatitis (Neurodermitis) konnte von einigen Forschungsgruppen gezeigt werden das der Serum-ECP Spiegel die Krankheitsaktivität gut reflektiert. So konnten Czech et al zeigen, daß der ECP-Spiegel sehr gut mit den Einzelnen bislang verwendeten Parametern Lichenifikation, Schlaflosigkeit, Erythem, Papelbildung, Juckreiz, des Scoring-Systems der Neurodermitis korreliert, wie

auch dem Gesamtscore. Gegenüber der subjektiven Beurteilung klinischer Parameter bietet die objektive Bestimmung von ECP große Vorteile. Die breiten Schwankungen durch individuelle Bewertungen durch den Untersuchenden und vor allem den Patienten werden so weitgehend eliminiert.

## Methodik

IMMULITE/IMMULITE 1000 ECP ist ein Festphasen, Zwei-phasen Chemilumineszenz immunometrischer Assay.

**Inkubationszyklen:** 1 × 30 min.

## Probengewinnung

Der Patient sollte bei der Blutabnahme nüchtern sein. Die Abnahme sollte (wenn möglich) in **Becton-Dickinson SST Vacutainer Röhrchen** erfolgen. Bitte registrieren Sie dabei die Zeit. Lassen Sie die Abnahmeröhrchen komplett füllen, schwenken Sie sie leicht und lassen Sie dann das Blut für 60–120 Minuten bei Raumtemperatur (15–28°C) gerinnen. Danach bei 1000–1300xg für 10 Minuten bei Raumtemperatur zentrifugieren und das Serum separieren. Bitte beachten Sie, dass in der Serumprobe stattfindende Prozesse, zusammen mit der Zeit und der Temperatur während der Gerinnung, Zentrifugation und Probenaufbewahrung die gemessene ECP-Konzentration beeinflussen kann. Diese die Probe beeinflussenden Prozesse können auch zu einer Inkonstanz der ECP-Messung führen.

### **Plasma oder hämolisierte Proben sollten nicht verwendet.**

Der Einsatz einer Ultrazentrifuge wird zur Klärung von lipämischen Proben empfohlen.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinneln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinneln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantientherapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab. IMMULITE/IMMULITE 1000 ECP sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden.

**Erforderliche Menge:** 5 µl Serum. (Inhalt der Probenschale muss mindestens 100 µl über der erforderlichen Gesamtmenge liegen.)

**Lagerung:** 7 Tage bei 2–8°C haltbar oder 3 Monate bei –20°C.<sup>12</sup>

Um ein Abfallen der ECP-Konzentration zu vermeiden, sollte das Serum in Polystyrol- oder Polypropylen-Röhrchen aufbewahrt werden und nicht in Glasröhrchen. Nicht versuchen, die Proben in einem warmen Wasserbad aufzutauen. Wiederholtes Einfrieren/Auftauen vermeiden.

## Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur **In-vitro**-Diagnostik.

**Reagenzien:** Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (<0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu vermeiden, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

**Chemilumineszenz-Substrat:** Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden. Siehe Packungsbeilage:

**Wasser:** Destilliertes oder deionisiertes Wasser verwenden.

## Im Lieferumfang enthalten

Die Komponenten sind aufeinander abgestimmt. Die Barcode-Etiketten werden für den Assay benötigt.

### ECP- Testeinheiten (LEO1)

Jede mit Barcode-Etikette versehene Einheit enthält eine mit monoklonalem Anti- ECP -Mausantikörper beschichtete Kugel. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

**LKEOZ:** 50 Testeinheiten.

Verpackte Testeinheiten vor dem Öffnen stehen lassen, bis sie Zimmertemperatur erreicht haben. Oben entlang der Kante aufschneiden, ohne den Plastikverschluss zu beschädigen. Verpackungen wieder dicht verschließen, damit der Inhalt trocken bleibt.

### ECP- Reagenzbehälter (LEO2)

Mit Barcode. 7,5 ml mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiertes polyklonales anti-ECP (Hase) in Pufferlösung (mit Konservierungsmittel). Verschlössen und gekühlt aufbewahren: Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar. Bei entsprechender Lagerung beträgt die empfohlene Verbrauchsfrist nach dem Öffnen 30 Tage.

**LKEOZ:** 1 Behälter.

### ECP- Kalibratoren (LEOL, LEOH)

Zwei Fläschchen (Low und High) mit lyophilisiertem ECP in einer ECP-freien nichthumanen Serum-Puffermatrix (mit Konservierungsmittel). Fläschchen mit je **2,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Zum Mischen leicht schwenken oder umdrehen, bis das lyophilisierte Material vollständig aufgelöst ist. Sofort nach der Rekonstituierung aliquotieren und einfrieren. Nach Rekonstituierung 6 Monate bei –20°C haltbar.

**LKEOZ:** 1 Set.

### ECP-Kontrollen (LEOC1, LEOC2)

Zwei Fläschchen mit lyophilisiertem ECP in einer ECP-freien nichthumanen Serum-Puffermatrix (mit Konservierungsmittel). Fläschchen mit je **2,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Vorsichtig durchmischen. Sofort nach der Rekonstituierung aliquotieren und einfrieren. Nach Rekonstituierung 6

Monate bei –20°C haltbar.

**LKEOZ:** 1 Set.

Die Konzentrationen entnehmen Sie bitte der Beilage zu den Kontrollen.

## Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

### **ECP -Verdünnungspuffer (LEOZ)**

Zum manuellen Verdünnen der Patientenproben. Ein Fläschchen (25 ml) prozessiertes ECP-freies nichthumanes Serum-Puffermatrix (mit Konservierungsmittel). 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).

**LSUBX:** Chemilumineszenz-Substrat

**LPWS2:** Waschmodul

**LKPM:** Reinigungsmodul

**LCHx-y:** Probenträger (mit Barcodierung)

**LSCP:** (Einmal) Probengefäße

**LSCC:** Verschlüsse für die Probengefäße (optional)

Ebenfalls benötigt

Transferpipetten für die Proben;  
destilliertes bzw. deionisiertes Wasser.

## Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im IMMULITE oder IMMULITE 1000-Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Das Handbuch für das IMMULITE bzw. IMMULITE 1000 enthält die Anweisungen für: Vorbereitung, Geräteeinstellungen, Verdünnungen, Kalibrierung, Testdurchführung und Qualitätskontrollen.

Überprüfen Sie jedes Testeinheit auf das Vorhandensein der Polystyrol-Kugel vor dem Einsetzen in das Gerät.

### **Empfohlenes Kalibrationsintervall:**

2 Wochen.

**Proben zur Qualitätskontrolle:** Die im Lieferumfang enthaltenen Kontrolle(n) verwenden.

## Referenzwerte

Eine Studie mit 56 gesunden freiwilligen Probanden (30 männliche und 26 weibliche) ergab einen Mittelwert von 11 ng/ml, und einen Medianwert von 10 ng/ml. 95% der gemessenen Proben lagen zwischen

nicht nachweisbar bis 24 ng/ml.

Diese Grenzwerte sind lediglich als *Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

## Grenzen der Methode

Unterschiedliche Probenbehandlung kann zu inkonstanten Messwerten führen.<sup>7</sup>

Heterophile Antikörper in Humansenen können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des in vitro Immunoassays verursachen. (Clin. Chem. 1988;34:27-33) Proben von Patienten, die häufig mit Tier- bzw. Tierserumprodukten zu tun haben, können die erwähnten Interferenzen verursachen und zu anomalen Resultaten führen. Die verwendeten Reagenzien sind so konzipiert, dass das Risiko einer Interferenz mit den zu messenden Proben minimiert ist. Dennoch können potentiell Interaktionen zwischen seltenen Seren und den Testkomponenten auftreten. Zu diagnostischen Zwecken sollten die mit dem Assay erhaltenen Ergebnisse immer in Kombination mit der klinischen Untersuchung, der Patientenanamnese und anderen Befunden gesehen werden.

## Leistungsdaten

Siehe Tabellen und Grafiken mit *repräsentativen* Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind als ng/ml ausgedrückt. (Sofern nicht anders angegeben, wurden alle Ergebnisse mit Serumproben, die in Becton Dickinson SST Vacutainer-Röhrchen abgenommen wurden, bestimmt.)

**Messbereich:** Bis 200 ng/ml.

**Analytische Sensitivität:** 0,2 ng/ml.

**High-Dose-Hook-Effect:**

Bis 8 000 ng/ml keiner.

**Intraassay-Präzision:** Statistik aus einem einzelnen Testansatz mit 20 Einzelmessungen (siehe Tabelle „Intraassay Precision“).

**Interassay-Präzision:** Statistik aus 20 verschiedenen Testansätzen (siehe Tabelle „Interassay Precision“).

**Linearität:** Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet.

(Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Linearity“.)

**Wiederfindung:** Die getesteten Proben waren mit drei ECP-Lösungen (100, 600 und 1 680 ng/ml) 1:19 versetzt.

(Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

**Bilirubin:** Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

**Hämolyse:** Kann zu einer leichten Erhöhung der Werte führen. (Siehe "Hemolysis" Tabelle.)

**Lipämie:** Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 3 000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

**Methodenvergleich:** Der Assay wurde unter Verwendung von 167 Patientenproben mit dem fluoroimmunoassay von Pharmacia (CAP-System) verglichen.

(Konzentrationsbereich ca. 2–145 ng/ml. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML) = 1,16 (Pharmacia CAP) – 1,46 ng/ml  
r = 0,988

Mittelwert:

19,8 ng/ml (IMMULITE)

18,3 ng/ml (Pharmacia CAP)

## Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

Das Qualitätssystem der Diagnostic Products Corporation ist nach ISO 13485:2003 registriert.

---

## Español

---

### ECP

**Utilidad del análisis:** Para su uso en el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE e IMMULITE 1000 — para la medición cuantitativa de proteína catiónica de eosinófilos (ECP) en suero.

Números de Catálogo: **LKEOZ** (50 tests)

Código del Test: **ECP**

Color: **Agua**

## Resumen y Explicación del Test

Los eosinófilos, que se originan en células primordiales de la médula ósea, aparecen en grandes cantidades en los puntos de inflamación y en respuesta a ciertas infecciones parasitarias. Estos leucocitos, cuando maduran, residen principalmente en los tejidos, pero alrededor del 1% de la población de eosinófilos circula en la sangre. Los eosinófilos activados se desgranulan para liberar cuatro proteínas muy básicas en el tejido circundante. Las proteínas granulares, que pueden matar parásitos y ciertas células de mamífero, pueden causar daños tisulares asociados con el asma y otras enfermedades inflamatorias. La activación de los eosinófilos acompaña a una amplia gama de condiciones inflamatorias, entre las que se incluyen el asma bronquial, la dermatitis atópica, la rinitis, la inflamación alérgica de los ojos, la efusión alérgica en el oído medio, infecciones parasitarias y bacterianas, enfermedades autoinmunes y el síndrome de fatiga crónica.<sup>11</sup>

Entre las cuatro proteínas granulares básicas, la proteína catiónica de eosinófilos (eosinophil cationic protein, ECP) ha demostrado ser un control útil para muchas enfermedades inflamatorias activas.<sup>11</sup> Las concentraciones de ECP en plasma y otros fluidos aumentan durante las reacciones inflamatorias marcadas por eosinófilos activados. Producida en exclusiva por los eosinófilos, la ECP es tóxica para las neuronas, algunas líneas de células epiteliales y células aisladas de miocardio. La proteína, cargada positivamente, se une a la heparina e inhibe la coagulación sanguínea.

Varios estudios señalan altas correlaciones individuales y de grupo entre los niveles de ECP y los síntomas clínicos del asma, tales como el aumento del flujo espiratorio máximo (PEF),  $\beta_2$ -agonista inhalado ("según lo necesario") prn, grado de reacción de vías respiratorias y espirometría.<sup>1,10</sup> Las muestras de suero atópicas tienen niveles de ECP más altos que las muestras de control no atópicas, incluso cuando el recuento de eosinófilos circulantes permanece dentro del intervalo normal.<sup>9</sup> En los pacientes con asma estacional, las medidas de ECP reflejan cambios en la actividad de la enfermedad a lo largo de

todo el año.<sup>1,9</sup> Roquet, et al. Señalaron significativas correlaciones entre los niveles de ECP y la hiperreactividad bronquial en pacientes con asma leve.<sup>6</sup> Tomassini, et al. Demostraron que las concentraciones de ECP en suero sobrepasan los niveles normales, de control, tanto en condiciones atópicas mediadas por IgE como no mediadas por IgE. Las medidas de ECP en suero evitan las inconsistencias inherentes a la valoración subjetiva del asma.

Las concentraciones de ECP en suero pueden indicar la gravedad de ciertos trastornos de la piel.<sup>2,3</sup> La toxicidad neuronal de la ECP podría contribuir a los trastornos que provocan prurito; los pacientes con ciertas enfermedades de la piel, tales como las erupciones eritematosas papulares y prurigo nodularis, mostraron niveles elevados de ECP en suero, que se normalizaron al sanar.<sup>8,3</sup> Varios grupos encontraron que las concentraciones de ECP en suero reflejan actividad asociada a dermatitis atópica (AD).<sup>2,3</sup> El sistema de valoración clínica comúnmente utilizado para la dermatitis atópica registra liquenificación, pérdida del sueño, eritema, pápulas, prurito y excoriaciones. Czech, et al. demostraron que la ECP está correlacionada con cada uno de estos síntomas, y se correlaciona en mayor medida con la valoración clínica total. Aunque la dermatitis atópica va acompañada de la alteración de los parámetros inmunológicos, los niveles de IgE medidos en suero no están correlacionados con algunos de los síntomas clínicos.<sup>2</sup> La naturaleza objetiva de las medidas de ECP en suero presenta una ventaja sobre las medidas clínicas subjetivas, que tienden a presentar inconsistencias provocadas por la variabilidad en las valoraciones de los investigadores y pacientes individuales.

### Principio del análisis

IMMULITE/IMMULITE 1000 ECP es un ensayo inmunométrico con dos sitios de unión, quimioluminiscente en fase sólida.

**Ciclos de incubación:** 1 × 30 minutos.

### Recogida de la muestra

No es necesario que el paciente ayune. Recoja la sangre por venipunción<sup>13</sup> en

tubos **Vacutainer Becton Dickinson SST**, anotando la hora de recogida. Llène por completo los tubos de recogida, inviértalos suavemente y deje que la sangre se coagule de 60 a 120 minutos a temperatura ambiente (15 a 28°C). Centrifugue a 1 000–1 300 xg durante 10 minutos a temperatura ambiente y separe el suero de las células. Observe que los parámetros de procesamiento de las muestras de sangre, incluyendo el tiempo y temperatura de coagulación, la centrifugación y el almacenamiento de las muestras, pueden tener consecuencias sobre la medida del nivel de ECP.<sup>7</sup> Las variaciones de los parámetros de procesamiento entre diferentes muestras pueden provocar medidas de ECP incoherentes.

### No deben utilizarse muestras de plasma o hemolisados.

Se recomienda el uso de una ultracentrífuga para aclarar las muestras lipémicas.

La centrifugación de las muestras de suero antes de que se forme el coágulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erróneos debidos a la presencia de fibrina, asegúrese que se ha formado el coágulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulación.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El ECP IMMULITE/IMMULITE 1000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos.

**Volumen requerido:** 5 µl suero. (El recipiente de la muestra debe contener, como mínimo, 100 µl más que el volumen total requerido).

**Conservación:** 7 días a 2–8°C, o 3 meses a –20°C.<sup>12</sup>

Almacene las muestras de suero en tubos de poliestireno, en lugar de tubos de cristal, para evitar el descenso de los valores de ECP. **NO** intente descongelar

al baño María las muestras congeladas. Evitar las congelaciones y descongelaciones repetidas.

## Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

**Reactivos:** Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

Siga las precauciones universales y manipule todos los componentes como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Los materiales derivados de sangre humana han sido analizados y son negativos para sífilis; para anticuerpos frente al HIV 1 y 2; para el antígeno de superficie de hepatitis B y para los anticuerpos de hepatitis C.

Se ha usado Azida sodica, en concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Para su eliminación, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitución de residuos de azidas metálicas, potencialmente explosivas, en las cañerías de cobre y plomo.

**Substrato quimioluminiscente:** Evitar la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto).

**Agua:** Usar agua destilada o desionizada.

## Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas de código de barras son necesarias para el ensayo.

### Unidades de análisis de ECP (LEO1)

Cada unidad etiquetada con código de barras contiene una bola recubierta de anticuerpos monoclonales murinos anti-ECP. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

**LKEOZ:** 50 unidades.

Espere a que las bolsas de las unidades de análisis alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas. Ábralas cortando por el extremo superior, dejando el borde del cierre de cremallera intacto. Vuelva a cerrar las bolsas herméticamente para protegerlas de la humedad.

### Vial de reactivo de ECP (LEO2)

Con códigos de barras. 7,5 ml Fosfatasa alcalina (de intestino de ternera)

conjugada con anticuerpo policlonal de conejo anti-ECP en solución tampón, con conservante. Guardar tapado y refrigerado: estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad. Se recomienda utilizarlo antes de que pasen 30 días después de abrirlo cuando se guarda según lo indicado.

**LKEOZ:** 1 vial.

### Ajustadores de ECP (LEOL, LEOH)

Dos viales (bajo y alto) contienen ECP liofilizada en una matriz de suero no humano en solución tampón libre de ECP, con conservante. Reconstituya cada vial con **2,0 ml** de agua destilada o desionizada. Mezcle por agitación o inversión suave hasta que se haya disuelto completamente el material iofilizado. Alicuote y congele inmediatamente después de su reconstitución. Estable a –20°C durante 6 meses tras su reconstitución.

**LKEOZ:** 1 juego.

### Controles de ECP (LEOC1, LEOC2)

Dos viales que contienen ECP liofilizada en una matriz de suero no humano en solución tampón libre de ECP, con conservante. Reconstituya cada vial con **2,0 ml** de agua destilada o desionizada. Mezclar suavemente con movimientos giratorios intermitentes. Alicuote y congele inmediatamente después de su reconstitución. Estable a –20°C durante 6 meses tras su reconstitución.

**LKEOZ:** 1 juego.

Consulte los niveles de concentración en el prospecto del control.

## Componentes del kit que se suministran por separado

### Diluyente de ECP (LEOZ)

Para la dilución manual de las muestras de los pacientes. Un vial que contiene 25 ml de suero no humano procesado, libre de ECP, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrirse, o hasta 6 meses (aliquotados) a –20°C.

**LSUBX:** Substrato quimioluminiscente

**LPWS2:** Lavado de sonda

**LKPM:** Kit de limpieza de sonda

**LCHx-y:** Soportes de recipientes de muestras (con códigos de barras)

**LSCP:** Recipientes de muestras (desechables)

**LSCC:** Tapas para los recipientes de muestras (opcionales)

También necesario  
Pipetas de transferencia de muestras;  
agua destilada o desionizada.

## Ensayo

Aviso: para obtener el funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el manual del operador de IMMULITE o IMMULITE 1000.

Ver el Manual del Operador del IMMULITE o IMMULITE 1000 para: preparación, procesamiento, diluciones, ajuste, procedimientos de ensayo y control de calidad.

Inspeccionar visulamente cada unidad de reacción para asegurarse de que hay una bola antes de introducirla en el Sistema.

**Intervalo de ajuste recomendado:**  
2 semanas.

**Muestras de Control de calidad:** Use los controles suministrados junto con el kit.

## Valores Esperados

Un estudio realizado sobre 56 voluntarios de laboratorio aparentemente sanos (30 hombres y 26 mujeres) arrojó una media de 11 ng/ml, una mediana de 10 ng/ml y un intervalo de referencia inferior al 95% de

ND hasta 24 ng/ml.

Estos límites han de considerarse sólo como una guía. Cada laboratorio deberá establecer sus propios intervalos de referencia.

## Limitaciones

Las variaciones en los parámetros de procesamiento de la sangre pueden provocar que las medidas de ECP sean incoherentes.<sup>7</sup>

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están

expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

## Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en ng/ml. (A menos que se especifique lo contrario, todos los resultados se generaron en muestras de suero recogidas en tubos Vacutainer Becton Dickinson SST).

**Intervalo de calibración:** Hasta 200 ng/ml.

**Sensibilidad:** 0,2 ng/ml.

**Efecto de gancho a altas dosis:**  
Ninguno hasta 8 000 ng/ml.

**Precisión intraensayo (dentro de una tanda):** Se han calculado datos estadísticos para las muestras a partir de los resultados de 20 replicados en una sola tanda. (Véase la tabla "Intraassay Precision").

**Precisión entre ensayos (de una tanda a otra):** Se han calculado datos estadísticos para las muestras analizadas en 20 tomas distintas. (Véase la tabla de "Interassay Precision").

**Linealidad:** las muestras fueron analizadas con varias diluciones. (Véase la tabla "Linearity" para resultados representativos).

**Recuperación:** Se han analizado las muestras cargadas 1 a 19 con tres soluciones (100, 600 y 1 680 ng/ml) de ECP. (Ver la tabla "Recovery" para resultados representativos).

**Bilirrubina:** La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

**Hemolisis:** Puede provocar un ligero aumento en los resultados. (Véase la tabla de "Hemolysis").

**Lipemia:** La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 3 000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

**Comparación del Método:** El ensayo se comparó con un fluoroinmunoensayo de Pharmacia CAP System, disponible en el mercado, sobre 167 muestras de suero de pacientes. (Rango de Concentración: aproximadamente 2 a 145 ng/ml. Ver el gráfico.) Por regresión lineal:

(IML) = 1,16 (Pharmacia CAP) – 1,46 ng/ml  
r = 0,988

Medias:

19,8 ng/ml (IMMULITE)

18,3 ng/ml (Pharmacia CAP)

## Asistencia técnica

Contacte con su Distribuidor Nacional.

El Sistema de Calidad de Diagnostic Products Corporation está registrado para la ISO 13485:2003.

---

## Français

---

### IMMULITE ECP

**Domaine d'utilisation :** dosage quantitatif de la protéine cationique éosinophile (ECP) dans le sérum. Ce test est réservé à un usage diagnostic *in vitro* avec l'Analyseur IMMULITE et de IMMULITE 1000.

Référence catalogue : **LKEOZ** (50 tests)

Code produit : **ECP**

Code couleur : **bleu-vert**

### Introduction

Les éosinophiles, qui ont pour origine les cellules souches de la moelle osseuse, apparaissent en grand nombre sur les sites d'inflammation et en réponse à certaines infections parasitaires. Ces leucocytes résident à maturité pour la plupart dans les tissus, mais environ 1 % de la population des éosinophiles circule dans le sang. Les éosinophiles lorsqu'ils sont activés dégranulent et libèrent dans les tissus avoisinants quatre protéines

fortement basiques. Ces protéines granulaires, qui peuvent tuer des parasites et certaines cellules de mammifères, peuvent entraîner des lésions tissulaires associées à l'asthme ou d'autres maladies inflammatoires. L'activation des éosinophiles accompagne de nombreuses maladies de type inflammatoire dont l'asthme bronchique, les dermatites atopiques, les rhinites, les inflammations allergiques de l'œil, les allergies de l'oreille moyenne, les infections parasitaires ou bactériennes, les maladies auto-immunes et le syndrome de fatigue chronique.<sup>11</sup>

Parmi les quatre protéines granulaires basiques, la protéine cationique éosinophile (ECP) a prouvé son intérêt dans le suivi de nombreuses pathologies inflammatoires actives.<sup>11</sup> Les concentrations d'ECP dans le plasma et certains autres fluides de l'organisme augmentent pendant les réactions inflammatoires qui entraînent l'activation des éosinophiles. Produite exclusivement par les éosinophiles, l'ECP est toxique pour les neurones, certaines lignées cellulaires épithéliales et les cellules myocardiques isolées. La protéine chargée positivement se fixe à l'héparine et inhibe la coagulation sanguine.

Différentes études ont montré une corrélation individuelle et de groupe importante entre le niveau d'ECP et les symptômes cliniques de l'asthme comme une augmentation du pic du flux expiratoire (PEF), le degré de réponse des bronches et la spirométrie.<sup>1,10</sup> Les échantillons de sérums de patients atopiques ont des niveaux d'ECP supérieurs à ceux des sérums de contrôle de patients non atopiques, même quand le nombre d'éosinophiles circulants reste dans le domaine des valeurs normales.<sup>9</sup> Chez les patients atteints d'asthme saisonnier, le dosage de l'ECP reflète les changements d'activité de la maladie pendant l'année.<sup>1,9</sup> Roquet et al ont montré qu'il existe une corrélation significative entre les niveaux d'ECP et l'hyperréactivité bronchique chez les patients atteint d'asthme modéré.<sup>6</sup> Tomassini et al ont montré que les concentrations d'ECP sont supérieures à la normale des niveaux de contrôle chez les patients atopiques IgE médiées ou non IgE médiées. Les dosages d'ECP dans le

sérum évite d'établir un diagnostic subjectif de l'asthme.

Les concentrations sériques d'ECP peuvent indiquer le degré de sévérité de certaines maladies de la peau.<sup>2,3</sup> La toxicité neuronale de l'ECP peut être à l'origine de problèmes de démangeaisons. Des patients atteints de certaines maladies de la peau comme les éruptions papulaires érythémateuses ou le prurigo nodularis présentent des niveaux d'ECP élevés qui se normalisent au moment de la guérison.<sup>3,8</sup> Différents groupes de chercheurs ont trouvé que les concentrations d'ECP dans le sérum reflète l'activité des dermatites atopiques.<sup>2,3</sup> Les symptômes cliniques utilisés couramment pour mesurer le degré d'évolution des dermatites atopiques incluent le développement de lichens, la perte de sommeil, l'érythème, les papules, le prurit et les excoriations. Czech et al ont montré que les variations du taux de l'ECP corrélaient avec chacun de ces symptômes et sont très fortement corrélées avec le score clinique total. D'autre part, certains paramètres immunologiques modifiés qui accompagnent la dermatite atopique comme les IgE sériques ne sont pas corrélés avec certains symptômes cliniques.<sup>2</sup> La nature objective du dosage de l'ECP dans le sérum présente un avantage par rapport à des données cliniques subjectives qui peuvent parfois conduire à des contradictions dans le diagnostic.

### Principe du Test

IMMULITE/IMMULITE 1000 ECP est un dosage chimiluminescent immunométrique, en deux étapes, en phase solide.

**Cycles d'incubation :** 1 × 30 minutes.

### Recueil des échantillons

Il n'est pas nécessaire que le patient soit à jeun. Prélever les échantillons sur **tubes vacutainer SST (Beckton Dickinson)** en notant l'heure du prélèvement. Remplir complètement les tubes de prélèvement puis les inverser doucement. Laisser le sang coaguler pendant 60 à 120 minutes à température ambiante (+15°C/+28°C). Centrifuger à 1 000–1 300×g pendant 10 minutes à température ambiante et séparer le sérum des cellules. Noter tous

les paramètres de préparation de l'échantillon sanguin, incluant le temps et la température de coagulation, de centrifugation, de conservation de l'échantillon, qui peuvent avoir une influence sur la concentration d'ECP mesurée.<sup>7</sup> Des variations dans la préparation de l'échantillon peuvent donner des mesures d'ECP variables.

### Ne pas utiliser d'échantillons de plasma ni d'échantillons hémolysés.

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, s'assurer de la formation complète du caillot avant de centrifuger les échantillons. Certains échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous anti-coagulants, peuvent nécessiter un temps plus long pour la formation du caillot.

Des tubes pour prélèvements sanguins provenant de fabricants différents peuvent donner des résultats différents, selon les matériaux et additifs utilisés, y compris gels ou barrières physiques, activateurs de la coagulation et/ou anticoagulants. Le coffret ECP IMMULITE/IMMULITE 1000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles.

**Volume nécessaire :** 5 µl de sérum. (L'unité-échantillon doit contenir au moins 100 µl de plus que le volume total nécessaire.)

**Conservation :** 7 jours à +2°C/+8°C ou 3 mois à -20°C.<sup>12</sup>

Conserver de préférence les échantillons de sérum dans des tubes de polystyrène ou polypropylène plutôt que des tubes de verre afin d'éviter une diminution des valeurs de ECP. Ne pas décongeler au bain-marie. Eviter de multiplier les cycles congélation/ décongélation.

### Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

**Réactifs :** conserver les réactifs à +2°/+8 °C. Eliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-VHC et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

**Substrat chimiluminescent** : éviter les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

**Eau** : utiliser uniquement de l'eau distillée ou désionisée.

### Materiel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à code-barre sont nécessaires au dosage.

### Tests unitaires ECP (LEO1)

Chaque unité code-barrée contient une bille revêtue d'une anticorps monoclonal murin anti-ECP. Stable à +2°/ +8 °C jusqu'à la date de péremption.

**LKEOZ**: 50 unités.

Porter les sachets à température ambiante avant d'ouvrir. Ouvrir le sachet avec des ciseaux en préservant le dispositif de fermeture. Refermer les sachets pour les protéger de l'humidité.

### Cartouche à réactif ECP (LEO2)

Avec code-barre. 7,5 ml de solution tamponnée de phosphatase alcaline (intestins de veau) conjuguée à un anticorps polyclonal de lapin anti-ECP avec un conservateur. Conserver bouché et réfrigéré : stable à +2°/ +8 °C jusqu'à la date de péremption. A utiliser de préférence dans les 30 jours qui suivent l'ouverture, si les recommandations de stockage sont respectées.

**LKEOZ**: 1 cartouche.

### Ajusteurs ECP (LEOL, LEOH)

2 flacons d'ajusteurs (« haut » et « bas ») contenant de l'ECP lyophilisée dans une matrice de sérum non-humain/tampon sans ECP avec conservateur. Reconstituer chaque flacon avec **2,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger en imprimant un léger mouvement circulaire ou en retournant délicatement jusqu'à complète dissolution de la substance lyophilisée. Aliquoter et congeler immédiatement après la reconstitution. Stable à -20 °C pendant 6 mois après reconstitution.

**LKEOZ**: 1 jeu.

### Contrôles ECP (LEOC1, LEOC2)

2 flacons contenant de l'ECP lyophilisée dans une matrice de sérum non-humain/tampon sans ECP avec conservateur. Reconstituer chaque flacon avec **2,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger par retournements. Aliquoter et congeler immédiatement après reconstitution. Stable à -20 °C pendant 6 mois après reconstitution.

**LKEOZ**: 1 jeu.

Se reporter à la fiche technique du contrôle pour les concentrations.

### Composants du coffret fournis séparément

#### Diluant échantillon ECP (LEOZ)

Pour la dilution manuelle des échantillons cliniques. Un flacon contenant 25 ml de sérum prétraité d'origine non humaine/tampon sans ECP avec conservateur. Stable à +2°/ +8°C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à -20°C.

**LSUBX** : Substrat chimiluminescent

**LPWS2** : Solution de lavage

**LKPM** : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

**LCHx-y** : Supports pour godets échantillons (avec code-barre)

**LSCP** : Godets échantillons (à usage unique)

**LSCC** : Bouchons pour godets échantillons (optionnel)

Egalement requis

Pipettes de transfert à échantillon ; eau distillée ou désionisée.

## Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel d'Utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000.

Voir le manuel d'utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000 pour la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Vérifier visuellement que chaque Unité-Test contient bien une bille avant de la charger dans l'automate.

**Intervalle d'ajustement recommandé :**  
2 semaines.

**Echantillons pour le contrôle de qualité :** utiliser le(s) contrôle(s) fournis avec le coffret.

## Valeurs de référence

Une étude réalisée sur une population de 56 volontaires apparemment en bonne santé (30 hommes et 26 femmes) a donné une moyenne de 11 ng/ml, une médiane à 10 ng/ml et un domaine de référence bas à 95 % de:

ND à 24 ng/ml.

Utiliser ces valeurs à *titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devra établir ses propres valeurs de référence.

## Limites

Des variations des paramètres de préparation du prélèvement sanguin peuvent entraîner des variations des mesures d'ECP.<sup>7</sup>

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages *in vitro*. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles

entre des rares sérums et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

## Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances de ce test. Les résultats sont donnés en ng/ml. (En l'absence d'indication supplémentaire, les résultats ci-dessous ont été obtenus avec des échantillons sériques prélevés sur tube vacutainer SST (Becton Dickinson).

**Domaine de mesure :** jusqu'à 200 ng/ml

**Sensibilité analytique :** 0,2 ng/ml

**Accoutumance aux doses élevées :**  
aucune jusqu'à 8 000 ng/ml.

**Précision intra-dosage (au sein d'une même série) :** les statistiques ont été réalisées sur les résultats de 20 replicates d'échantillons dosés au cours d'une même série. (Voir le tableau « Intraassay Precision ».)

**Précision inter-dosage (entre plusieurs séries) :** les statistiques ont été réalisées sur des échantillons dosés dans 20 séries différentes (Voir le tableau « Interassay Precision ».)

**Test de dilution :** des échantillons ont été dosés à différentes concentrations. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

**Test de récupération :** des échantillons dosés ont été chargés dans une proportion de 1 à 19 avec trois solutions d'ECP (100, 600 et 1 680 ng/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

**Bilirubine :** La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

**Hémolyse :** Peut causer une légère élévation des valeurs. (Voir le tableau « Hemolysis ».)

**Lipémie :** La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3 000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

**Comparaison de méthodes** : le test a été comparé au fluoroimmunosorbent CAP système Pharmacia, disponible dans le commerce, sur 167 échantillons (dont les concentrations allaient de 2 à 145 ng/ml environ. Voir graphique). Par régression linéaire :

(IML) = 1,16 (Pharmacia CAP) – 1,46 ng/ml  
r = 0,988

Moyennes :  
19,8 ng/ml (IMMULITE)  
18,3 ng/ml (Pharmacia CAP)

### Assistance technique

En France distribué par DPC France 90  
bd National 92257 La Garenne-Colombes.

Le système d'assurance qualité de DPC est  
certifié ISO 13485 (2003).

---

## Italiano

---

### ECP

**Uso:** Ad uso diagnostico *in vitro* con gli Analizzatori IMMULITE ed IMMULITE 1000 — per la misurazione quantitativa della proteina cationica eosinofila (ECP) nel siero.

Codice: **LKEOZ** (50 test)

Codice del Test: **ECP**

Colore: **acqua**

### Riassunto e spiegazione del Test

Gli eosinofili, che hanno origine dalle cellule di base del midollo osseo, appaiono in grandi quantità nei siti di infiammazione ed in risposta ad alcune infezioni parassitarie. Questi leucociti, una volta maturi, si situano principalmente nei tessuti, ma circa l'1% della popolazione eosinofila circola nel sangue. Gli eosinofili attivati degranulano per rilasciare quattro proteine di base altamente significative nei tessuti circostanti. Le proteine granulari, che uccidono i parassiti ed alcune cellule di mammiferi, possono danneggiare i tessuti in associazione con asma ed altre malattie infiammatorie. L'attivazione degli eosinofili accompagna un range esteso di stati infiammatori, inclusa l'asma bronchiale, la dermatite atopica, l'infiammazione allergica agli occhi,

l'effusione allergica dell'orecchio medio, le infezioni parassitarie e batteriche, le malattie autoimmuni, e la sindrome da affaticamento cronico.<sup>11</sup>

Tra le quattro proteine granulari fondamentali, si è riscontrato che la proteina cationica eosinofila (ECP) rappresenta un controllo utile per molte malattie infiammatorie attive.<sup>11</sup> Le concentrazioni di ECP nel plasma ed in alcuni fluidi corporei aumentano durante reazioni infiammatorie contraddistinte dalla presenza di eosinofili attivati. Prodotta esclusivamente dagli eosinofili, l'ECP è tossica per i neuroni, alcune linee di cellule epiteliali e di cellule miocardiche isolate. La proteina con carico positivo si lega all'eparina ed inibisce la coagulazione del sangue.

Alcuni studi hanno dimostrato forti correlazioni individuali e di gruppo tra i livelli di ECP ed i sintomi clinici dell'asma, quali un aumento nel picco del ritmo espiratorio (PEF), il prn ("come necessario") la  $\beta_2$ -agonista inalata, la risposta delle vie respiratorie e la spirometria.<sup>1,10</sup> Campioni di siero atopico presentano livelli di ECP superiori a campioni di siero non atopico di controllo, anche quando la conta degli eosinofili in circolo rimane entro il range normale.<sup>9</sup> In pazienti con asma stagionale, le misurazioni di ECP rispecchiano i cambiamenti nell'attività della malattia durante l'anno.<sup>1,9</sup> Roquet, et al. ha dimostrato correlazioni significative tra i livelli di ECP e l'iperreattività bronchiale in pazienti con asma più lieve.<sup>6</sup> Tomassini, et al. ha dimostrato che le concentrazioni di ECP nel siero sono superiori ai livelli normali di controllo in condizioni atopiche IgE e non IgE mediate. Le misurazioni di ECP nel siero evitano incongruenze derivate da valutazioni soggettive dell'asma.

Le concentrazioni di ECP nel siero possono essere indice della gravità di alcuni disturbi della pelle.<sup>2,3</sup> La tossicità neurale dell'ECP potrebbe contribuire al prurito; pazienti con eruzioni eritematose papulari e prurigo nodularis hanno presentato livelli di ECP elevati nel siero, che poi sono diventati normali dopo la guarigione.<sup>8,3</sup> Diversi gruppi hanno riscontrato che le concentrazioni di ECP nel siero rispecchiano l'attività della dermatite atopica (AD).<sup>2,3</sup> Il metodo clinico

più comune per la valutazione della dermatite atopica registra la lichenificazione, la perdita del sonno, l'eritema, le papule, il prurito, e le escoriazioni. Czech, et al. ha dimostrato che l'ECP correla con ognuno di questi sintomi, e la correlazione è più forte con la valutazione clinica totale. Benchè i parametri immunologici alterati accompagnino la dermatite atopica, le concentrazioni delle IgE nel siero non hanno dimostrato correlazioni con alcuni sintomi clinici.<sup>2</sup> La natura oggettiva delle misurazioni dell'ECP nel siero presenta un vantaggio rispetto alle misurazioni cliniche soggettive, che sono più inclini a incongruenze basate su di un range più esteso di valutazioni individuali effettuate dai pazienti.

### Principio del Dosaggio

IMMULITE/IMMULITE 1000 ECP è un dosaggio immunometrico in chemiluminescenza in fase solida a doppio sito.

**Cicli d'incubazione:** 1 × 30 minuti.

### Prelievo dei Campioni

Il paziente non deve essere a digiuno. Prelevare il sangue<sup>13</sup> in provette **SST vacutainer della Becton Dickinson**, registrando l'ora del prelievo. Riempire completamente le provette, capovolgerle delicatamente, e lasciar coagulare il sangue per 60–120 minuti a temperatura ambiente (15–28°C). Centrifugare a 1 000–1 300×g per 10 minuti a temperatura ambiente e separare il siero dalle cellule. E' da tener presente che i parametri per l'analisi del sangue, incluso tempo e temperatura della coagulazione del sangue, centrifugazione, e conservazione del campione, potrebbero avere un impatto sulle concentrazioni di ECP misurate.<sup>7</sup> Variazioni nei parametri per l'analisi del sangue possono causare misurazioni di ECP non in linea.

**I campioni di plasma ed i campioni emolizzati non devono essere utilizzati.**

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

La centrifugazione dei campioni del siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina,

assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE/IMMULITE 1000 ECP non è stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette.

**Volume richiesto:** 5 µL di siero. (Il porta campioni deve contenere almeno 100 µL più del volume totale richiesto).

**Conservazione:** 7 giorni a 2–8°C o 3 mesi a –20°C.<sup>12</sup>

Conservare i campioni di siero in provette di polistirene o polipropilene invece di utilizzare provette di vetro, per evitare una diminuzione dei valori di ECP. *Non* cercare di scongelare i campioni congelati riscaldandoli in un bagno d'acqua. Evitare cicli ripetuti di congelamento/scongelamento.

### Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

**Reagenti:** Conservare a 2–8°C. Scartare in conformità alle leggi applicabili.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e gli anticorpi Anti-Epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

**Sottostrato chemiluminescente:** Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce del sole diretta. (Vedere l'inserimento).

**Acqua:** Utilizzare acqua distillata o deionizzata.

## Materiali Forniti

I componenti sono un gruppo accoppiato. Le etichette del codice a barra sono necessarie per la prova.

### Test Unit ECP (LEO1)

Ogni test unit con codice a barra contiene una sferetta coattat con un anticorpo monoclonale murino anti-ECP. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

**LKEOZ:** 50 unit.

Le buste delle test unit devono essere a temperatura ambientale prima di aprire. Aprire tagliando lungo il bordo superiore, lasciando intatto la chiusura ermetica. Risigillare le buste per proteggere contro umidità.

### Porta Reagente ECP (LEO2)

Con codice a barre. 7,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo policlonale di coniglio anti-ECP con conservanti. Conservare chiuso nel frigorifero: stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza. Si consiglia di utilizzare il prodotto entro 30 giorni dall'apertura se conservato nella maniera indicata.

**LKEOZ:** 1 Porta Reagente.

### Calibratori ECP (LEOL, LEOH)

Due flaconi (Basso ed Alto), contenenti ECP liofila in una matrice/tampone di siero non umano privo di ECP, con conservanti. Ricostituire ogni flacone con **2,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare agitando delicatamente o capovolgendo la miscela finché il materiale liofilo sia completamente dissolto. Aliquotare e congelare immediatamente dopo al ricostituzione. Stabile a –20°C per 6 mesi dopo la ricostituzione.

**LKEOZ:** 1 set.

### Controlli ECP (LEOC1, LEOC2)

Due flaconi contenenti ECP liofila in una matrice/tampone di siero non umano privo di ECP, con conservanti. Ricostituire ogni flacone con **2,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare con rotazione leggera ed intermittente finché il materiale liofilo sia completamente dissolto. Aliquotare e congelare immediatamente dopo al ricostituzione. Stabile a –20°C per 6 mesi dopo la ricostituzione.

**LKEOZ:** 1 set.

Fare riferimento all'inserimento di controllo per i livelli della concentrazione.

IMMULITE/IMMULITE 1000 ECP (PILKEO-5, 2005-06-15)

## I componenti dei kit sono forniti separatamente

### Diluyente dell'ECP (LEOZ)

Per la diluizione manuale dei campioni dei pazienti. Un flacone contenente 25 mL di ECP liofilo in una matrice/tampone di siero non umano processato privo di ECP, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

**LSUBX:** Substrato Chemiluminescente

**LPWS2:** Tampone di lavaggio dell'Ago

**LKPM:** Kit di Pulizia dell'Ago

**LCHx-y:** Tubi porta campioni (con codice a barre)

**LSCP:** Porta Campioni (monouso)

**LSCC:** Coperchi per Porta Campioni (opzionali)

Materiali richiesti

Pipette per la dispensazione dei campioni; acqua distillata o deionizzata.

## Procedura del Dosaggio

Attenzione: per avere prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definito nel Manuale dell'Operatore dell'IMMULITE o IMMULITE 1000.

Vedi il Manuale dell'Operatore IMMULITE o IMMULITE 1000 per: preparazione, setup, diluizioni, calibrazione, dosaggio e controllo di qualità.

Controllate ogni test unit verificando la presenza della sferetta prima di caricarla sullo strumento.

**Intervallo di Calibrazione Consigliato:** 2 settimane.

**Campioni per il controllo della qualità:** Utilizza i controlli forniti con il kit.

## I valori attesi

Uno studio condotto su 56 volontari all'interno del laboratorio (30 uomini e 26 donne) presumibilmente in buono stato di salute ha prodotto una media di 11 ng/mL, una mediana di 10 ng/mL ed un range di riferimento al 95% di:

ND – 24 ng/mL.

Considerare questi limiti soltanto come *linee guida*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire le proprie gamme di riferimento.

## Limiti

Variazioni nei parametri di analisi del sangue possono causare misurazioni di ECP non in linea.<sup>7</sup>

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi in vitro. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

## Prestazioni del Dosaggio

Vedere le tabelle e le grafiche per i dati *rappresentativi* delle prestazioni della prova. I risultati sono espressi in ng/mL. (Se non diversamente specificato, tutti i risultati sono stati generati in campioni di siero prelevati in provette SST vacutainer della Becton Dickinson.)

### Range di Calibrazione:

Fino a 200 ng/mL.

**Sensibilità Analitica:** 0,2 ng/mL.

### Effetto di dosi forti:

Nessun effetto fino a 8 000 ng/mL.

**Precisione intraprove (Entro la stessa esecuzione):** Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 20 ripetizioni in un'esecuzione unica (Vedere la tabella "Intraassay Precision").

**Precisione interprove (Da un'esecuzione all'altra):** Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 20 esecuzioni diverse (Vedere la tabella "Interassay Precision").

**Linearità:** I campioni sono stati provati sotto varie diluzioni (Vedere la tabella "Linearity per i dati rappresentativi").

**Recupero:** Sono stati dosati campioni 1:19 ai quali sono state aggiunte tre soluzioni di ECP (100, 600 e 1 680 ng/mL). (Vedi la Tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

**Bilirubina:** La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

**Emolisi:** Può causare un lieve innalzamento dei valori. (Vedi la Tabella "Hemolysis".)

**Lipemia:** La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 3 000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

**Comparazione di Metodi:** Il dosaggio è stato comparato al dosaggio fluorimetrico della Pharmacia CAP System in 167 campioni di siero dei pazienti. (Range di concentrazione: da 2 fino a 145 ng/mL. Vedi grafico.) Con regressione lineare:

(IML) = 1,16 (Pharmacia CAP) – 1,46 ng/mL  
r = 0,988

Valore medio:

19,8 ng/mL (IMMULITE)

18,3 ng/mL (Pharmacia CAP)

## Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore DPC Nazionale.

Il Sistema Qualità della Diagnostic Products Corporation è certificato secondo le norme ISO 13485:2003.

---

## Português

---

### ECP

**Utilização:** Para uso diagnóstico *in vitro* nos analisadores IMMULITE e IMMULITE 1000 — para o doseamento quantitativo da proteína catiónica de eosinófilos (ECP) em soro.

Números de catálogo: **LKEOZ** (50 testes)

Código do teste: **ECP**

Cor: **Verde água**

### Sumário e explicação do teste

Os eosinófilos, originários de células pedunculadas da medula óssea, aparecem em grande número em locais

de inflamação e em resposta a determinadas infecções parasitárias. Esses leucócitos, quando maduros, residem na maioria dos tecidos, mas cerca de 1% da população eosinófila circula no sangue. Os eosinófilos activados desgranulam-se para libertar quatro proteínas altamente básicas para o tecido circundante. As proteínas granulares, que podem matar parasitas e algumas células mamíferas, podem causar os danos de tecido associados com a asma e outras doenças inflamatórias. A activação do eosinófilo está relacionado com uma vasta gama de condições inflamatórias, incluindo asma brônquica, dermatite atópica, rinite, inflamação ocular alérgica, efusão alérgica do ouvido médio, infecções bacterianas e parasitárias, doenças auto-imunes, e síndrome do cansaço crónico.<sup>11</sup>

Entre as quatro proteínas granulares básicas, a proteína catiónica eosinófila (ECP), tem comprovado ser um monitor útil para muitas doenças inflamatórias activas.<sup>11</sup> As concentrações de doenças em plasma e outros fluídos corporais aumentam durante as reacções inflamatórias acentuadas por eosinófilos activados. Produzida exclusivamente por eosinófilos, a ECP é tóxica aos neurónios, algumas linhas de células epiteliais e células miocárdicas isoladas. A proteína carregada positivamente liga-se à heparina e inibe a coagulação sanguínea.

Vários estudos referem correlações de grupo e individuais elevadas entre níveis de ECP e sintomas clínicos de asma, como o aumento no pico de fluxo expiratório (PEF), beta 2-agonista inalado prn, reactividade das vias aéreas e espirometria.<sup>1,10</sup> Amostras atópicas de soro possuem níveis mais elevados de ECP do que amostras de controlo não atópico, mesmo quando a contagem dos eosinófilos circulantes permanece dentro da faixa normal.<sup>9</sup> Em pacientes asmáticos sazonais, as medidas de ECP reflectem alterações na actividade da doença durante o ano.<sup>1,9</sup> Roquet,( e outros), reportou correlações significativas entre níveis de ECP e hiper-reatividade brônquica e hiper-reatividade em doentes moderadamente asmáticos.<sup>6</sup> Tomossini, (e outros), mostrou que concentrações de ECP no soro excedem níveis de controlos normais em ambas as

condições atópicas, se ou não mediadas por IgE. As medições de ECP no soro evitam inconsistências inerentes às avaliações de asma subjectivas.

As concentrações de ECP no soro podem indicar a gravidade de certas doenças da pele.<sup>2,3</sup> A toxicidade neural de ECP pode contribuir para certas doenças da pele, como erupções eritematosas papulares e prurido nodular, exibiram níveis maiores de ECP no soro, que normalizam quando as doenças sararam.<sup>8,3</sup> Vários grupos descobriram que as concentrações de ECP no soro reflectem actividades de dermatite atópica (AD).<sup>2,3</sup> O sistema de registo clínico mais regularmente usado para dermatite atópica regista liquenificação, perda de sono, eritema, pápulas, prurido, e escoriações. Czech (e outros), mostrou que o ECP se correlaciona com cada um destes sintomas, e a maioria se correlaciona bastante com o registo clínico total. Embora os parâmetros imunológicos alterados acompanhem a dermatite atópica, as concentrações de IGE no soro não se correlacionaram com alguns sintomas clínicos.<sup>2</sup> A natureza objectiva dos doseamentos de ECP no soro apresentam uma desvantagem sobre as medições clínicas subjectivas, que têm a predisposição para inconsistências resultantes de uma vasta gama de avaliações individuais do doente e investigador.

## Princípio do Procedimento

A ECP IMMULITE/IMMULITE 1000 é um ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente de duas voltas.

**Ciclos de incubação:** 1 × 30 minutos.

## Colheita

O doente não precisa de estar em jejum. Colher o sangue por venopunção<sup>13</sup> em **tubos de contenção a vácuo Becton Dickinson SST**, anotando a hora da colheita. Encha os tubos de colheita completamente, invertendo-os ligeiramente, e deixe o sangue coagular por 16–20 minutos à temperatura ambiente (15–28°C). Centrifugue a 1 000–1 300×g por 10 minutos à temperatura ambiente, e separe o soro das células. Note que os parâmetros de processamento da amostra de sangue,

incluindo o tempo e a temperatura de coagulação do sangue, centrifugação e armazenamento da amostra, podem ter influência na concentração de ECP obtida.<sup>7</sup> As variações nos parâmetros de processamento sanguíneo entre a amostragem podem causar medições de ECP inconsistentes.

**As amostras de plasma ou hemolizadas não deverão ser usadas.**

Recomenda-se o uso de uma ultra centrífuga para clarear amostras lipémicas.

A centrifugação de amostras de soro antes da formação completa do coágulo pode resultar na presença de fibrina. Para prevenir resultados errados devido à presença de fibrina, certifique-se que a formação do coágulo foi completa antes da centrifugação das amostras. Algumas amostras, em especial as de doentes que recebem terapia anticoagulante podem requerer um maior tempo de formação do coágulo.

Os tubos para colheita sanguínea de diferentes fabricantes, podem originar diferentes valores, dependendo dos materiais e aditivos, incluindo gel ou barreiras físicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE / IMMULITE 1000 ECP não foram ainda testados com todas as possíveis variações originadas pelos tipos de tubos.

**Volume de Amostra:** 5 µL de soro. (Vaso de amostra deve conter um mínimo de 100 µL a mais que o volume total exigido.)

**Estabilidade:** 7 dias a 2–8°C, ou 3 meses a –20°C.<sup>12</sup>

Armazene as amostras de soro em poliestireno ou polipropileno em vez de tubos de vidro, para evitar a redução nos valores de ECP. Não tente descongelar os espécimes aquecendo-os em banho-maria. Evite ciclos repetidos de congelamento/descongelamento.

## Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

**Reagentes:** Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas

obtidas de soro humano foram testadas, dando resultados negativos para a sífilis, para os anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2; para o antigénio de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

Azida de sódio foi adicionada como conservante; para evitar acumulações de azidas metálicas explosivas em canalizações de cobre e alumínio, os reagentes devem ser rejeitados no esgoto apenas se estiverem diluídos e forem lavados com grandes volumes de água.

**Substrato quimioluminescente:** Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula do substrato).

**Água:** Use água destilada ou deionizada.

## Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. Os códigos de barras no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

### Unidades de Teste de ECP (LEO1)

Cada unidade rotulada por código de barras contém uma pérola revestida de anticorpo monoclonal murino anti-ECP. Estável até a data de validade a 2–8°C. **LKEOZ:** 50 unidades.

Antes de abrir as saquetas com Unidades de Teste, deixe que estas atinjam a temperatura ambiente. Corte as saquetas pela borda superior, mantendo o fecho intacto. Feche novamente as saquetas para proteger contra a humidade.

### Embalagem de reagentes de ECP (LEO2)

Com código de barras. Contém 7,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de bezerro) conjugada com anticorpo policlonal de coelho anti-ECP tamponizada, com conservante. Armazene tapado e refrigerado: Estável até à data de validade a 2–8°C. Recomenda-se a utilização até 30 dias após aberto quando armazenado de acordo com as indicações. **LKEOZ:** 1 embalagem.

### Ajustes ECP (LEOL, LEOH)

Dois fracos (nível alto e baixo) contendo ECP liofilizado numa matriz de soro não humano, tamponizada livre de ECP, com conservante. Reconstitua cada frasco com

**2,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misture por inversão ou movimentos lentos até o material liofilizado dissolver completamente. Aliquote e congele imediatamente após a reconstituição. Estável por 6 meses após a reconstituição a  $-20^{\circ}\text{C}$ .  
**LKEOZ:** 1 conjunto.

**Controlos de ECP (LEOC1, LEOC2)**  
Dois frascos contendo ECP liofilizado numa matriz de soro não humano, tamponizada livre de ECP, com conservante. Reconstitua cada frasco com **2,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misture com movimentos gentis e intermitentes. Aliquote e congele imediatamente após a reconstituição. Estável por 6 meses após a reconstituição a  $-20^{\circ}\text{C}$ .  
**LKEOZ:** 1 conjunto.

Refira-se à literatura inserida para os níveis de concentração.

### Componentes do kit fornecidos separadamente

**Diluyente de amostra para ECP (LEOZ)**  
Para a diluição manual de amostras de doentes, numa matriz sérica livre de ECP com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a  $2-8^{\circ}\text{C}$ , ou por 6 meses (aliquotado) a  $-20^{\circ}\text{C}$ .  
**LEOZ:** 25 mL

**LSUBX:** Substrato quimioluminescente  
**LPWS2:** Solução de lavagem  
**LKPM:** Kit de limpeza do pipetador  
**LCHx-y:** Suportes de Cuvetes de Amostra (com código de barras)  
**LSCP:** Cuvetes de Amostra (descartáveis)  
**LSCC:** Tampa de Cuvetes de Amostra (opcional)

Também necessário :  
Pipetas de transferência de amostra; água destilada ou desionizada.

### Procedimento de doseamento

Têr em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000.

Ver o Manual do Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000 para: preparação,

setup, diluições, ajustes, procedimento do ensaio e controlo de qualidade.

Confirme a presença da esfera em cada Unidade de Teste antes de a colocar no sistema.

**Intervalo entre ajustes aconselhável:**  
2 semanas.

**Amostras de controlo de qualidade:**  
Utilize os controlos fornecidos com o kit.

### Valores de Referência

Um estudo realizado em 56 voluntários de laboratórios aparentemente saudáveis (30 homens e 26 mulheres) produziu uma média de 11 ng/mL, uma mediana de 10 ng/mL e uma faixa de referência de 95% mais baixa de:

ND para 24 ng/mL.

Estes valores devem ser considerados apenas como directrizes. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

### Limitações

As variações nos parâmetros de processamento de sangue podem causar medições inconsistentes de ECP.<sup>7</sup>

Os anticorpos heterófilicos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoensaios in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interações entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

### Características do ensaio

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em ng/mL. (Salvo quando

especificado de outra forma, todos os resultados foram obtidos em amostras de soro colhidas em tubo de contenção a vácuo Becton Dickinson SST.)

**Calibração:** Até 200 ng/mL.

**Sensibilidade Analítica:** 0,2 ng/mL.

**Efeito Hook de Alta Dose:**  
nenhum até 8 000 ng/mL.

**Precisão Intra-ensaio (Entre ensaios):** Cálculos estatísticos foram efectuados para os resultados de 20 réplicas num único ensaio. (Consulte a tabela "Intraassay Precision" (Precisão Intra-ensaio))

**Precisão Inter-ensaio (Ensaio a ensaio):** Cálculos estatísticos foram efectuados para os resultados para 20 réplicas. (Consulte a tabela "Interassay Precision" (Precisão Inter-ensaio))

**Linearidade:** As amostras foram doseadas sob várias diluições. (Consulte a tabela "Linearity" para dados representativos.)

**Recuperação:** As amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções ECP (100, 600 e 1 680 ng/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

**Bilirrubina:** A presença de bilirrubina conjugada em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

**Hemólise:** Pode causar uma ligeira elevação dos valores. (Ver tabela de "Hemolysis".)

**Lipemia:** A presença de triglicéridos em concentrações até 3 000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

**Comparação de métodos:** O doseamento foi comparado com o doseamento de fluoroimunodoseamento disponível comercialmente da Pharmacia CAP System em 167 amostras de soro de pacientes. (Zona de trabalho: aproximadamente 2 a 145 ng/mL. Consulte o gráfico.) Regressão linear:

(IML) = 1,16 (Pharmacia CAP) – 1,46 ng/mL  
r = 0,988

Médias:

19,8 ng/mL (IMMULITE)

18,3 ng/mL (Pharmacia CAP)

## Assistência Técnica:

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

O Sistema de Qualidade da Diagnostic Products Corporation está registado sob ISO 13485:2003.

**DPC**®

Diagnostic Products Corporation  
Corporate Offices  
5210 Pacific Concourse Drive  
Los Angeles, CA 90045-6900  
USA

2005-06-15

PILKEO – 5



EC REP DPC Biermann GmbH  
61231 Bad Nauheim  
Germany  
+49 -6032-994-00